

**DIE HAEMOTOXISCHE WIRKUNG
DES CYTOSIN ARABINOSID UND DEREN BEEINFLUSSUNG
DURCH DESOXYCYTIDIN**

von
Victor G. Biro
aus
Budapest

1968 № 3 2 6



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546221_0040

Aus dem Pathologischen Institut
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. E. Müller

DIE HAEMOTOXISCHE WIRKUNG DES CYTOSIN ARABINOSID UND DEREN BEEINFLUSSUNG DURCH DESOXYCYTIDIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Victor G. Biro
aus
Budapest

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

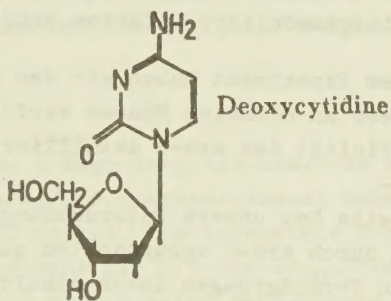
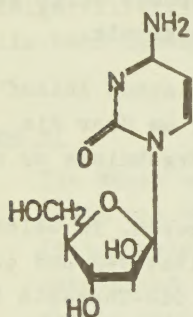


Dekan : Prof. Dr. Kröncke
Referent: Prof. Dr. K. Elster
Tag der mündlichen Prüfung: 19. 11. 1968

Einleitung

Das abnorme Nucleosid, cytosin arabinoside (ara-C), welches auch als 1- β -D-arabinofuranosylcytosin, cytarabine und CA bekannt ist, wurde 1959 von Hunter (1) sowie von Walwick und Mitarbeiter (2) voneinander unabhängig synthetisiert. Diese Pyrimidin nucleosid analoge Verbindung (Abb. 1/a)

1- β -D-Arabinosylcytosine



ist daneben ein hochinteressantes Hilfsmittel zur Erforschung der Biochemie der Nucleinsäuren(3). Es zeigt experimentell (13, 18, 19) und klinisch (4, 5, 6, 7, 8) tumorhemmende und antivirale Eigenschaften.

Obwohl das ara-C sowohl im Experiment als auch schon in der Klinik verwendet wird, gibt es bis jetzt noch keine umfassende Publikation über eine formelle praeklinische toxikologische Untersuchung dieses Stoffes. Wir haben im pathologischen Institut und in der chirurgischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg (9) toxikologische Untersuchungen im Tierexperiment darüber angestellt und beobachtet, daß die wesentliche toxische Wirkung des ara-C gegen das Knochenmark gerichtet ist. Darauf weist auch ein noch nicht publizierter Vorbericht von Smith (10) hin.

Die experimentellen Studien lassen daran denken, daß die antitumorhemmende und antivirale Wirkung des ara-C, die in Zell- und Viruskulturen demonstriert wurde, durch Des-oxyctidin (CdR) aufgehoben werden kann (20, 21).

So scheint die Möglichkeit gegeben, daß die therapeutische Breite von ara-C durch simultane Applikation von CdR vergrößert werden kann (22). Dies wäre besonders nützlich, wenn man im Falle von soliden Tumoren extrem hohe Dosen von ara-C verwenden müßte und die Hämatopoese durch gleichzeitige intramedulläre Infusion schützen könnte.

In unserem Experiment haben wir den cyclischen Ablauf der Hämatopoese an normalen Mäusen verfolgt, um über die Hämatotoxizität des ara-C detaillierte Ergebnisse zu erhalten. -

Andererseits hat unsere Untersuchung ergeben, in welchem Maße den durch ara-C verursachten quantitativen und qualitativen Veränderungen durch simultane CdR-Therapie in diesem in vivo-System entgegengewirkt werden kann.

Material und Methodik

10 - 12 Wochen alte, männliche, 27-30 gr schwere, pathogenfreie Mäuse vom Hoch-Inzuchtsstamm NMRI/Hannover, werden zu je fünf in einem Käfig gehalten. Futter und Wasser standen ad lib. zur Verfügung.

Cytosin arabinoside (ara-C) und Desoxycytidine-hydrochlorid (CdR) in gereinigter Form von der Firma Heinrich Mack Nachfolger/Illertissen in Bayern hergestellt, wurden in den jeweils benötigten Konzentrationen mit 0,9 %-iger NaCl gelöst.

Gruppe A:

Die Mäuse wurden 5 Tage lang mit ara-C in einer Dosis von 60 mg/kg/die intraperitoneal behandelt (Totaldosis: 300 mg/kg). Die angegebene Dosis entspricht etwas mehr als $1/3$ der LD_{50} . Gleichzeitig wurden 0,3 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung s.c. appliziert.

Gruppe B:

ara-C; 60 mg/kg/Tag intraperitoneal über 5 Tage lang (= Totaldosis: 300 mg/kg) und gleichzeitig CdR: 100 mg/kg/Tag s.c. ebenfalls 5 Tage lang (= Totaldosis: 500 mg/kg).

Gruppe C: (Kontrollgruppe)

0,3 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung intraperitoneal pro Maus/Tag und gleichzeitig 0,3 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung pro Maus/Tag s.c.

Jeweils 10 Mäuse pro Beobachtungstag der Gruppe A sowie der Gruppe B wurden am 6., am 9. und am 14. sowie am 20. Tag getötet. Diese Tiere wurden mit denen der Gruppe C, welche hypothetisch dem Tag "0" entsprachen, verglichen. In der Gruppe C wurden 60 Mäuse zur Untersuchung des

peripheren Blutes und 10 zu Studien des Knochenmarkes verwendet.

Die Mäuse wurden mit Evipan^R (100 mg/kg) narkotisiert. Nach Eröffnung des Thoraxes wurden jeweils 0,75 ml aus der rechten Herzkammer mit einer heparinisierten Spritze durch Punktion mit einer aV5-Kanüle gewonnen. Bei jedem Tier wurde Erythrocytenzahl, Hämoglobin, Hämatokrit, Leucocytenzahl, Thrombocytenzahl und Differentialblutbild zweifach untersucht. Die Auszählung der Erythrocyten und der Leucocyten erfolgte mit der "4-Kammer 2-Pipetten-Methode nach Wintrobe". Die Hämoglobinometrie wurde mit der Cyanmethämoglobin-Methode nach Crosby und Mitarbeiter durchgeführt (11). Zur Bestimmung des Hämatokrits wurde das Mikrohämatokritverfahren verwendet. Für das Differentialblutbild wurde die Färbung nach May-Grünwald-Giemsa angefertigt. Bei beiden Ausstrichen wurden jeweils 100 Zellen ausgezählt. Die indirekte Bestimmung der Thrombocytenzahl erfolgte nach Vorbereitung. Ein Tropfen einer 14 %-igen $MgSO_4$ -Lösung wurde auf jeweils 4 Ausstriche pro Tier zugesetzt.

Knochenmarksuntersuchung:

Das Knochenmark für das Hämomyelogramm wurde aus dem rechten hinteren Femur der Tiere entnommen. Es wurden jeweils 2 Ausstriche pro Maus nach der May-Grünwald-Giemsa-Methode gefärbt und je 500 kernhaltige Zellen pro Ausstrich ausgezählt. Die Megakariocytenzahl wurde durch Auszählung von je 10.000 kernhaltigen Zellen pro Ausstrich bestimmt. Der linke hintere Femur wurde in einem Stück entfernt und nach Vorbereitung zur Beurteilung der Dichte des hämatopoetischen Gewebes mit Hämatoxilin-Eosin angefärbt.

Die statistische Signifikanz (p) wurde nach dem Student's-t-Test errechnet.

Tafel I

DAY 0				DAY 9				DAY 14				DAY 20			
PCV (%)	① SALINE CONTROL	① ara-C	② ara-C +Cdr	SIGNIF. (p)	① ara-C	② ara-C +Cdr	SIGNIF. (p)	① ara-C	② ara-C +Cdr	SIGNIF. (p)	① ara-C	② ara-C +Cdr	SIGNIF. (p)	① ara-C	② ara-C +Cdr
	4.21 ± 0.2	51.4 ± 1.3	40.0 ± 0.5	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.001	34.8 ± 0.8	41.2 ± 0.5	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.1	41.8 ± 0.7	43.7 ± 0.6	PA-C < 0.3 PA-B < 0.05 PB-C < 0.001	43.0 ± 0.6	44 ± 0.6	PA-C < 0.3 PA-B < 0.3 PB-C < 0.001	43.0 ± 0.6	44 ± 0.6
Hb (g%)	13.73 ± 0.05	16.0 ± 0.4	12.36 ± 0.4	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.002	9.7 ± 0.7	12.42 ± 0.3	PA-C < 0.001 PA-B < 0.005 PB-C < 0.02	12.65 ± 0.21	13.37 ± 0.18	PA-C < 0.05 PA-B < 0.05 PB-C < 0.5	13.15 ± 0.16	13.3 ± 0.34	PA-C < 0.001 PA-B < 0.8 PB-C < 0.005	13.15 ± 0.16	13.3 ± 0.34
RBC (x10 ⁹)	8.49 ± 0.09	9.75 ± 0.03	7.27 ± 0.02	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.001	6.97 ± 0.33	8.21 ± 0.04	PA-C < 0.001 PA-B < 0.005 PB-C < 0.2	8.24 ± 0.16	8.97 ± 0.24	PA-C < 0.3 PA-B < 0.02 PB-C < 0.05	8.89 ± 0.2	9.34 ± 0.16	PA-C < 0.1 PA-B < 0.1 PB-C < 0.001	8.89 ± 0.2	9.34 ± 0.16
WBC	2750 ± 150	1400 ± 180	1950 ± 150	PA-C < 0.001 PA-B < 0.005 PB-C < 0.05	1900 ± 50	2500 ± 140	PA-C < 0.005 PA-B < 0.001 PB-C < 0.6	2550 ± 300	3200 ± 550	PA-C < 0.7 PA-B < 0.4 PB-C < 0.3	2800 ± 300	3.200 ± 500	PA-C < 0.9 PA-B < 0.5 PB-C < 0.3	2800 ± 300	3.200 ± 500
PLATELET (x10 ³)	473 ± 13	251 ± 21	330 ± 16	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.001	131 ± 44	284 ± 30	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.001	227 ± 30	429 ± 22	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.2	416 ± 10	444 ± 10	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.4	416 ± 10	444 ± 10
PMN (%)	31.4 ± 1.3	8.5 ± 1.9	25.9 ± 2.1	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.2	17.0 ± 2.3	30.7 ± 1.6	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.8	38.1 ± 3.1	29.1 ± 4.0	PA-C < 0.1 PA-B < 0.1 PB-C < 0.6	37.5 ± 12.5	38.2 ± 2.5	PA-C < 0.2 PA-B < 0.35 PB-C < 0.1	37.5 ± 12.5	38.2 ± 2.5
LYMPHOS (%)	65.2 ± 1.7	89.9 ± 1.9	70.3 ± 2.2	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.3	80.9 ± 3.7	66.6 ± 1.7	PA-C < 0.001 PA-B < 0.001 PB-C < 0.8	58.7 ± 3.0	68.4 ± 2.0	PA-C < 0.2 PA-B < 0.1 PB-C < 0.5	60.7 ± 20.2	52.0 ± 4.1	PA-C < 0.4 PA-B < 0.3 PB-C < 0.01	60.7 ± 20.2	52.0 ± 4.1
MONOS (%)	1.75 ± 0.2	0.8 ± 0.2	3.5 ± 0.7	PA-C < 0.05 PA-B < 0.001 PB-C < 0.001	2.0 ± 0.6	2.6 ± 0.7	PA-C < 0.7 PA-B < 0.5 PB-C < 0.1	3.2 ± 1.0	2.4 ± 0.3	PA-C < 0.02 PA-B < 0.5 PB-C < 0.1	1.6 ± 0.5	2.4 ± 0.3	PA-C < 0.8 PA-B < 0.1 PB-C < 0.3	1.6 ± 0.5	2.4 ± 0.3
EOS (%)	0.4 ± 0.1	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.15	PA-C < 0.02 PA-B < 0.9 PB-C < 0.2	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01	PA-C < 0.1 PA-B < 1.0 PB-C < 0.1	0.1 ± 0.01	0.1 ± 0.01	PA-C < 0.1 PA-B < 1.0 PB-C < 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.15	PA-C < 1.0 PA-B < 0.2 PB-C < 0.1	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.15
WEIGHT CHANGE (%)	0	-17.5	-1.0		-6.6	-3.5		-2.8	+2.6		0	+5.0		0	+5.0

Ergebnisse

Die Veränderungen des peripheren Blutes nach der Behandlung mit ara-C sowie nach der Behandlung mit ara-C kombiniert mit CdR sind auf Tafel I dargestellt.

Zunächst soll die Wirkung des ara-C allein chronologisch besprochen werden, um darauf folgend in der Kombination den Einfluß des CdR darzustellen.

Gruppe A

Tag 6:

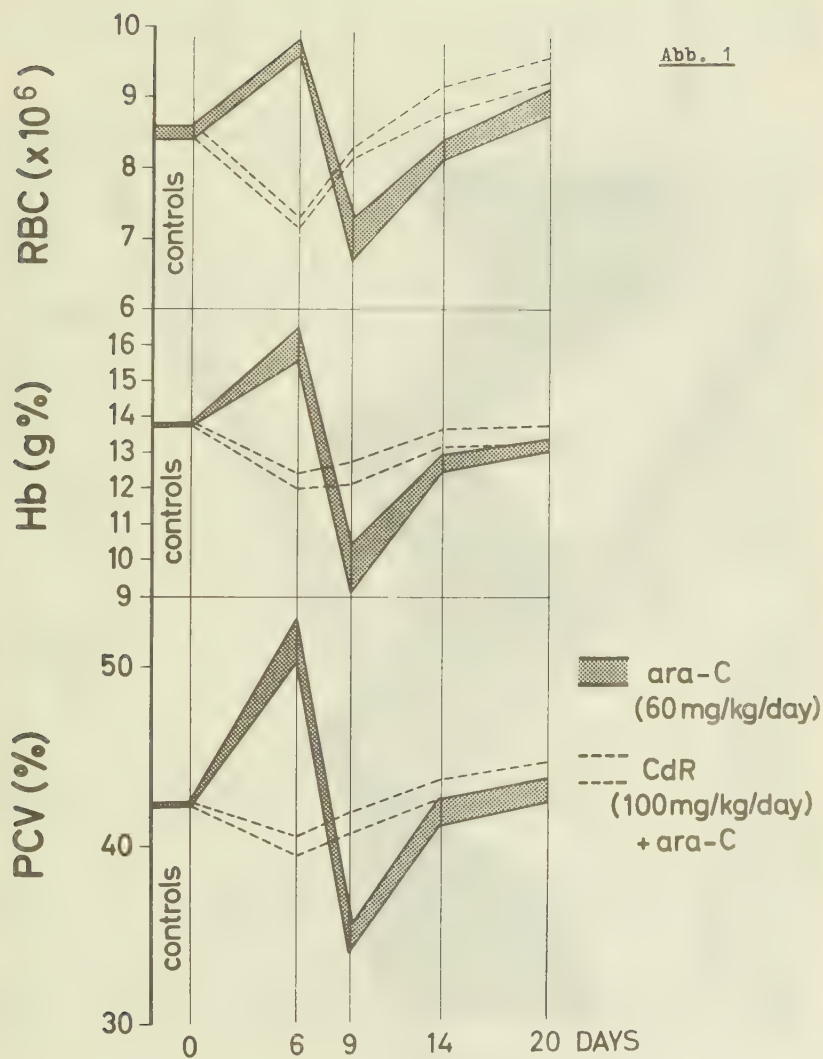
Die Hämatokrit-, Hämoglobin- und Erythrocytenwerte (Abb. 1) sind alle extrem erhöht bei den ara-C behandelten Mäusen. Im Gegensatz zum Verhalten dieser erythroiden Elemente (Hämatokrit, Hb, Erythrocytenzahl) findet man eine signifikant erniedrigte Gesamtleucocytenzahl um nahezu 50 %. Ähnlich signifikant ist die zu beobachtende verminderte Thrombocytenzahl (Abb. 3). Das Differentialblutbild zeigt, daß die Verminderung der Neutrophilen (PMN) für den Abfall der Gesamtleucocytenzahl verantwortlich ist. Die prozentuale Vermehrung der Lymphocyten reflektiert nur eine relative Lymphozytose, weil die absolute Zahl der Lymphocyten ebenfalls reduziert ist (Abb. 2).

Die Veränderung der Monocyten und der Eosinophilen scheint ebenfalls signifikant zu sein.

Tag 9:

Die erythroiden Komponenten (Htc = PCV sowie Hb und Erythrocytenzahl = RBC) und die Thrombocytenzahl erreichen (PLATELET) ihren tiefsten Punkt, während die Leucocytenzahl anzusteigen beginnt als Zeichen der Rekuparation am 4. Tag nach der Therapie. Die relative Lymphocytose scheint noch immer evident.

Abb. 1



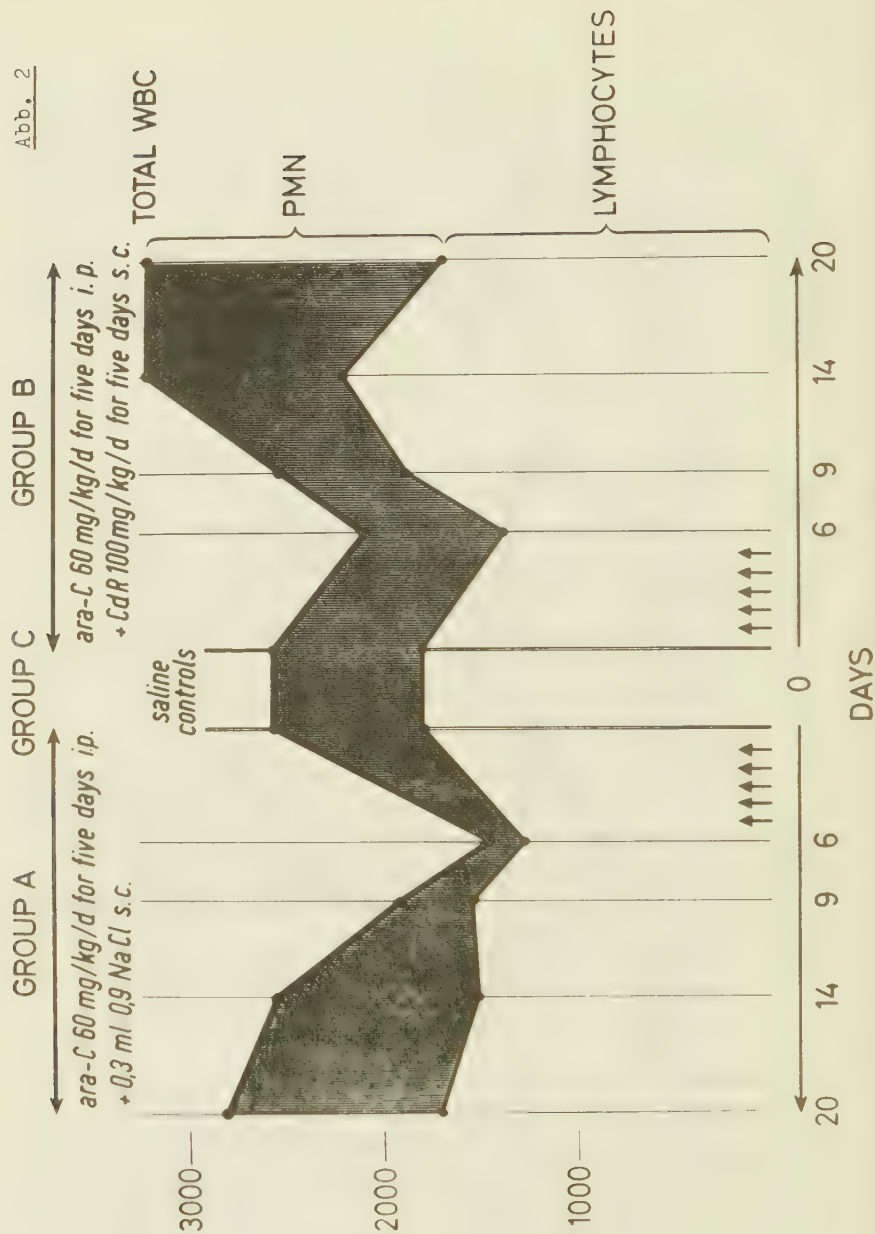
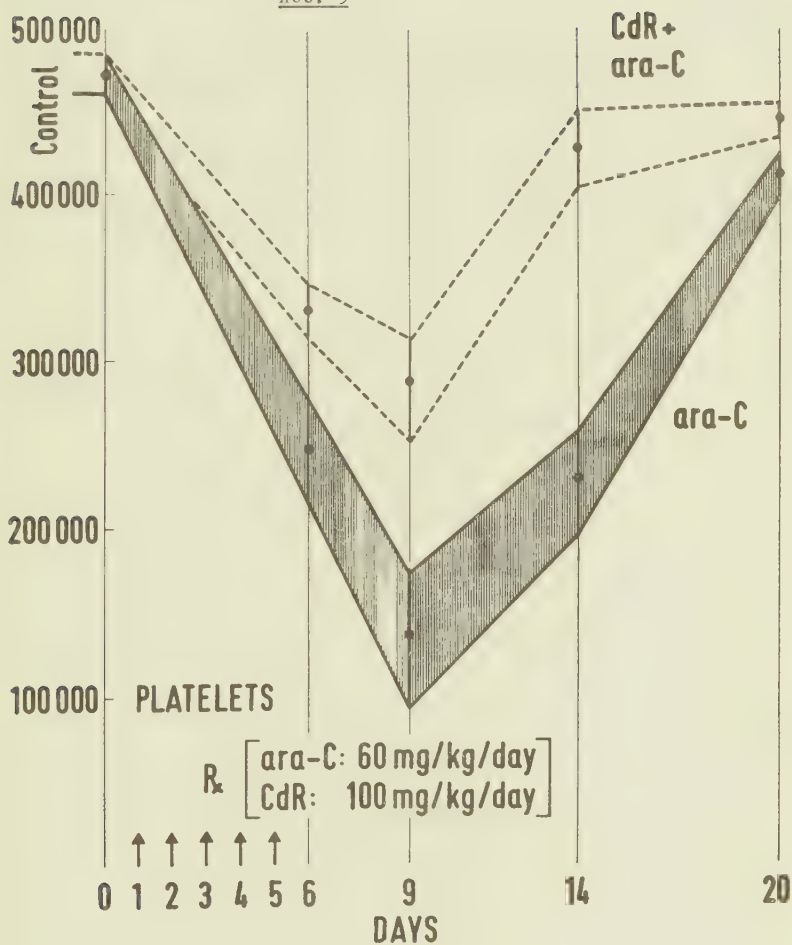


Abb. 3



Tag 14:

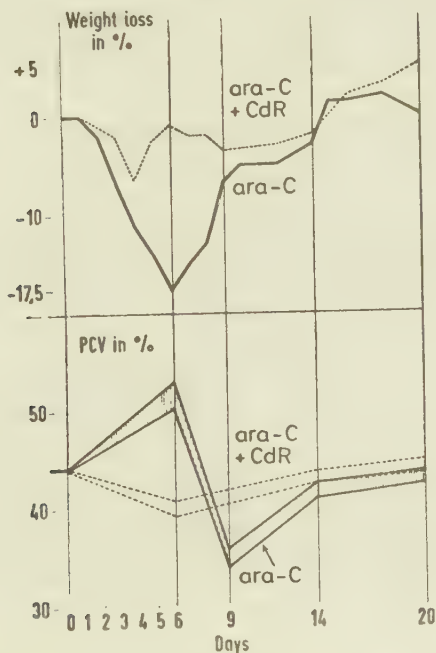
Alle Blutkomponenten mit Ausnahme des Hämoglobins und der Thromocytenzahl sind zu normalen Werten zurückgekehrt.

Tag 20:

Wieder werden nur der Hämoglobinwert und die Thrombocytenzahl signifikant vermindert gefunden.

Gruppe B

Durch die gleichzeitige CdR-Therapie ist es gelungen, fast alle toxischen Wirkungen des ara-C zu verhindern mit Ausnahme der Verminderung der Thrombocytenzahl. Jedoch kehrt auch die Thrombocytenzahl später zur Norm zurück im Gegensatz zu den früher besprochenen Versuchstieren der Gruppe A. Die eindrucksvolle Wirkung des ara-C erfolgt an den erythroiden Elementen. Diese kann jedoch durch die gleichzeitige Applikation von CdR verhindert werden. Der Vergleich zwischen der Erhöhung des Hämatokrits und dem raschen Gewichtsverlust der Tiere am 6. Tag weist auf eine Hämokonzentration hin (Abb. 4). Es scheint so, daß es sich



bei der initialen ara-C-Wirkung bei Mäusen um eine Dehydratation und um eine Hämokonzentration handelt. Eine Reduzie-

Table II

	DAY 0			DAY 6			DAY 9			DAY 14			DAY 20		
	① SALINE CONTROL	② ara-c	SIGNE (p)	③ ara-c	SIGNE (p)	④ ara-c +GR	⑤ ara-c	SIGNE (p)	⑥ ara-c +GR	SIGNE (p)	⑦ ara-c	SIGNE (p)	⑧ ara-c	SIGNE (p)	⑨ ara-c +GR
ERYTHROBLASTS	375±92	2.3 ± 0.34	P<0.01 P<0.001 P<0.02	4.8 ± 0.28	P<0.01 P<0.001 P<0.02	21 ± 0.18	2.2 ± 0.13	P<0.001 P<0.005 P<0.02	2.8 ± 0.27	P<0.005 P<0.01 P<0.03	2.2 ± 0.13	P<0.001 P<0.005 P<0.02	2.8 ± 0.27	P<0.005 P<0.01 P<0.03	2.2 ± 0.13
MEGAKARYOBLASTS	2515±196	5.0 ± 0.31	P<0.001 P<0.001 P<0.03	22.8 ± 1.51	P<0.001 P<0.001 P<0.03	183 ± 137	13.6 ± 0.24	P<0.001 P<0.001 P<0.03	17.6 ± 0.51	P<0.001 P<0.001 P<0.03	13.6 ± 0.24	P<0.001 P<0.001 P<0.03	17.6 ± 0.51	P<0.001 P<0.001 P<0.03	13.6 ± 0.24
MYELOBLASTS	385±160	13.8 ± 1.05	P<0.001 P<0.001 P<0.05	7.5 ± 0.86	P<0.001 P<0.001 P<0.05	53 ± 0.55	5.3 ± 0.55	P<0.001 P<0.001 P<0.05	4.5 ± 0.32	P<0.001 P<0.001 P<0.05	7.2 ± 0.36	P<0.001 P<0.001 P<0.05	4.5 ± 0.32	P<0.001 P<0.001 P<0.05	7.2 ± 0.36
MYELOCYTES	5.8 ± 0.61	22.2 ± 1.35	P<0.001 P<0.001 P<0.001	2.1 ± 0.33	P<0.001 P<0.001 P<0.001	8.5 ± 0.49	8.0 ± 0.41	P<0.001 P<0.001 P<0.005	7.5 ± 0.56	P<0.001 P<0.001 P<0.005	7.5 ± 0.56	P<0.001 P<0.001 P<0.005	7.5 ± 0.56	P<0.001 P<0.001 P<0.005	7.5 ± 0.56
MEGA-MYELOCYTES	715±82	3.7 ± 0.51	P<0.001 P<0.001 P<0.02	5.9 ± 0.64	P<0.001 P<0.001 P<0.02	8.0 ± 0.28	5.6 ± 0.58	P<0.001 P<0.001 P<0.02	8.4 ± 0.33	P<0.001 P<0.001 P<0.02	8.9 ± 0.45	P<0.001 P<0.001 P<0.02	8.4 ± 0.33	P<0.001 P<0.001 P<0.02	8.9 ± 0.45
RINGFORM	1015±90	4.1 ± 1.17	P<0.001 P<0.001 P<0.05	9.7 ± 0.89	P<0.001 P<0.001 P<0.05	12.8 ± 0.54	11.8 ± 1.19	P<0.001 P<0.001 P<0.05	11.8 ± 0.57	P<0.001 P<0.001 P<0.05	15.6 ± 1.19	P<0.001 P<0.001 P<0.05	11.8 ± 0.57	P<0.001 P<0.001 P<0.05	15.6 ± 1.19
BANDFORM	12.2 ± 0.68	7.7 ± 1.20	P<0.001 P<0.001 P<0.02	11.1 ± 0.76	P<0.001 P<0.001 P<0.02	10.4 ± 0.9	8.0 ± 0.43	P<0.001 P<0.001 P<0.05	12.7 ± 0.58	P<0.001 P<0.001 P<0.05	12.8 ± 0.58	P<0.001 P<0.001 P<0.05	12.7 ± 0.58	P<0.001 P<0.001 P<0.05	12.8 ± 0.58
SEGMENTED	1375±145	9.4 ± 1.74	P<0.001 P<0.001 P<0.05	18.3 ± 1.43	P<0.001 P<0.001 P<0.05	23.2 ± 1.50	11.6 ± 0.78	P<0.001 P<0.001 P<0.05	20.9 ± 1.54	P<0.001 P<0.001 P<0.05	22.3 ± 0.83	P<0.001 P<0.001 P<0.05	20.9 ± 1.54	P<0.001 P<0.001 P<0.05	22.3 ± 0.83
EOSINOPHILS	1.4 ± 0.22	0.7 ± 0.02	P<0.001 P<0.001 P<0.01	0.7 ± 0.02	P<0.001 P<0.001 P<0.01	1.4 ± 0.24	1.2 ± 0.13	P<0.001 P<0.001 P<0.01	1.4 ± 0.12	P<0.001 P<0.001 P<0.01	1.2 ± 0.02	P<0.001 P<0.001 P<0.01	1.4 ± 0.12	P<0.001 P<0.001 P<0.01	1.2 ± 0.02
LYMPHOCYTES	8.65±0.74	28.4 ± 1.87	P<0.001 P<0.001 P<0.07	8.1 ± 0.58	P<0.001 P<0.001 P<0.07	9.5 ± 0.33	11.3 ± 0.92	P<0.001 P<0.001 P<0.03	9.3 ± 0.49	P<0.001 P<0.001 P<0.03	7.9 ± 0.13	P<0.001 P<0.001 P<0.03	9.3 ± 0.49	P<0.001 P<0.001 P<0.03	7.9 ± 0.13
PLASMA CELLS	0.65±0.3	0.6 ± 0.12	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.5 ± 0.15	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.9 ± 0.12	0.9 ± 0.18	P<0.001 P<0.001 P<0.02	0.8 ± 0.13	P<0.001 P<0.001 P<0.02	0.7 ± 0.13	P<0.001 P<0.001 P<0.02	0.8 ± 0.13	P<0.001 P<0.001 P<0.02	0.7 ± 0.13
RETICULUM CELLS	1.55±0.32	1.4 ± 0.36	P<0.001 P<0.001 P<0.02	0.5 ± 0.07	P<0.001 P<0.001 P<0.02	2.9 ± 0.29	1.5 ± 0.20	P<0.001 P<0.001 P<0.02	1.3 ± 0.29	P<0.001 P<0.001 P<0.02	1.9 ± 0.23	P<0.001 P<0.001 P<0.02	1.3 ± 0.29	P<0.001 P<0.001 P<0.02	1.9 ± 0.23
MONOCYTES	0.05±0.05	0.2 ± 0.02	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.05 ± 0.05	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0	0.05 ± 0.05	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.2 ± 0.08	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.2 ± 0.02	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.2 ± 0.08	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.2 ± 0.02
LEUCOCYTES	0.758±0.038	0.084 ± 0.019	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.088 ± 0.022	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.203 ± 0.023	0.216 ± 0.027	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.258 ± 0.015	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.226 ± 0.013	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.258 ± 0.015	P<0.001 P<0.001 P<0.05	0.226 ± 0.013
W/E RATIO	2.14	7.44		2.47		3.42	1.60		3.26		4.76		3.26		2.94

rung aller Blutzellen folgt erst später. Sie ist ein kurz dauernder reversibler Prozeß mit Ausnahme bei den Thrombocyten.

Die Tafel II faßt unsere Knochenmarksbefunde nach Behandlung von ara-C und ara-C mit gleichzeitiger CdR-Therapie zusammen. Wie bereits früher, wird auch hier zuerst die ara-C-Wirkung allein besprochen.

Gruppe A

Tag 6:

Das ara-C löst eine sehr drastische Reduktion der erythroiden Elemente des Knochenmarkes aus. Der starke Abfall des Normoblastenanteils von 25 % auf 6 % steigert die Myeloid/Erythroid (M/E)-Ratio. Andererseits ist die Reduktion des Erythroblastenanteils nicht signifikant. In der myeloiden Reihe gibt es eine relative Vermehrung aller Formen, die jünger als Metamyelocyten sind und eine entsprechende prozentuale Verminderung der Metamyelocyten sowie der noch reiferen Zellen dieser Reihe.

Die lymphoretikulären Elemente des Knochenmarkes (Lymphocyten, Plasmazellen, Retikulumzellen) zeigen eine extrem relative Erhöhung von 11 % auf 30 %. Eine bedeutende Reduktion der Megakaryocyten ist ebenfalls vorhanden.

Tag 9:

Verglichen mit dem Tag 6 sowie mit den Kontrollwerten stürzt die M/E-Ratio auf 1,60 ab. Nachdem der Prozentsatz der Erythroblasten sich nicht signifikant verändert hat, kann dieser plötzliche Abfall der M/E-Ratio nur dem Anstieg des Prozentsatzes der Normoblasten zugeschrieben werden. Der relative Anteil der Myeloblasten ist nicht mehr erhöht, während der Anteil der Myelocyten noch immer hoch ist. Im

allgemeinen zeigen die Zellen der myeloiden Reihe eine Tendenz zur Rekuperation bzw. Normalisierung. Die lymphoretikulären Komponente sowie die Megakariocyten haben wieder die Normalwerte erreicht.

Tag 14:

Der Prozentsatz der Normoblasten und der Erythroblasten ist signifikant niedriger als normal. Mit Ausnahme der Myeloblasten und der Ringformen haben im allgemeinen alle myeloiden Elemente wieder normale Werte. Das lymphoretikuläre Zellsystem ist wieder normal, gleichfalls die Megakariocyten. Es scheint also, daß sowohl die erythroiden als auch die myeloiden Elemente von der Wirkung des ara-C rekuperiert sind.

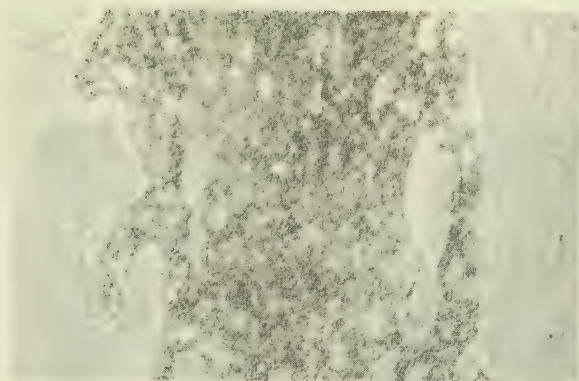
Tag 20:

Von den erythroiden Komponenten ist nur noch der Normoblastenanteil verringert, obwohl dieser Wert bereits wieder größer ist als am Tag 14.

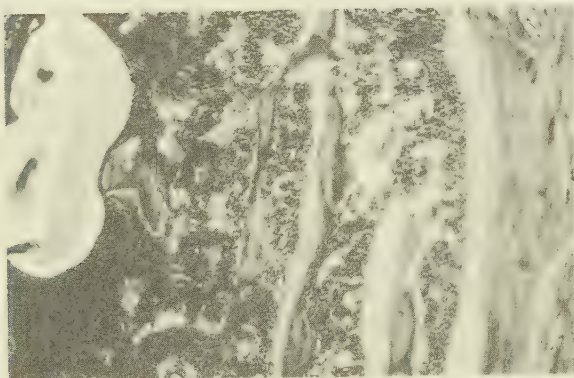
Gruppe B

Im allgemeinen konnten alle Wirkungen auf das Knochenmark von ara-C durch CdR aufgehoben werden. Jedoch blieb die Megakaryocytenzahl erniedrigt. Dies entspricht der Unfähigkeit des CdR, die Wirkung des ara-C, nämlich die Reduzierung der Thrombocytenzahl im peripheren Blut zu verhindern.

Die histologischen, hämatoxylin-eosin gefärbten Schnitte des Knochenmarkes demonstrieren ebenfalls die oben erwähnten Veränderungen. Während das Knochenmark der unbehandelten Gruppe (C) und der Gruppe, die mit ara-C (Abb. 5)

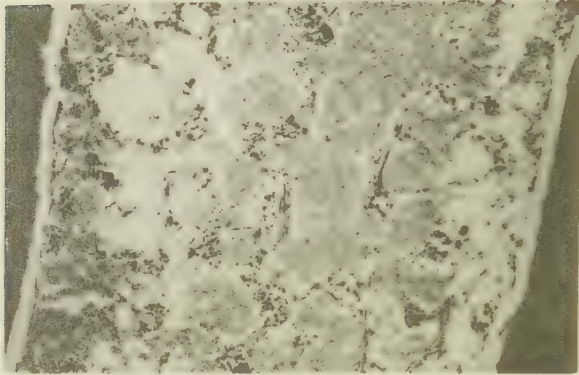


und CdR (Gruppe B) (Abb. 6) behandelt wurden, kaum vonein-



ander zu unterscheiden ist, weisen die Tiere der Gruppe A, die nur mit ara-C behandelt wurden, ein aplastisches Knochenmark mit Erythrocyten-gefüllten Kapillaren, die in

einem lockeren retikulären Netz eingebettet sind, auf
(Abb. 7).



Diskussion

Die bis jetzt noch nicht beschriebene, überraschende Wirkung der massiven ara-C-Therapie bei Mäusen ist die dabei auftretende frühzeitige Hämokonzentration. Diese Wirkung ist dosisabhängig, reversibel, sie kann durch gleichzeitige Verwendung von CdR aufgehoben werden. Die Hämokonzentration mit dem dabei auftretenden rapiden Gewichtsverlust (Abb. 8) weist auf eine Dehydratation hin. Wir müssen zum derzeitigen Standpunkt der Untersuchung die Hypothese aufstellen, daß die Hämokonzentration mit einer Störung des Elektrolyt- und Flüssigkeitsgleichgewichtes verbunden ist, also somit nicht hämatologisch bedingt ist, denn wir haben den Eindruck gewonnen, daß die nur mit ara-C behandelten Mäuse der Gruppe A eine Polydypsie und Polyurie aufwiesen. Ähnlich wie bei den von uns an anderer Stelle beschriebenen myocardialen Veränderungen (9) könnte es möglich sein, daß es sich hierbei um eine lichtmikroskopisch nicht sichtbare Veränderung der subzellularen Strukturen der renalen Tubuli handelt. Direkte oder indirekte Veränderungen treten durch Elektrolytstörungen auf, und zwar dadurch, daß sich eine osmolare Verschiebung als Resultat zwischen zellularen und extrazellularen Compartementen einstellt, indem gewisse oxydative Enzyme des Zitronensäurecyklus geschädigt werden und somit die Energiefreigabe blockieren, welche für den Wassertransport aus der Zelle gegen ein osmotisches Gefälle nötig ist. Darüber haben unter anderen Bedingungen bereits CHRISTIE und JUDA berichtet (12). Zur weiteren Klärung des paradoxen Phänomens der Hämokonzentration wäre es wohl erforderlich, die Mitochondrien der renalen Tubuli zu untersuchen.

Derzeit wird versucht, die ara-C-Wirkung auf die blutbildenden Elemente durch folgende drei Aktionsmechanismen zu erklären:

- 1) ara-C hemmt die reduktive Umwandlung eines Ribonukleotids zu Desoxyribonukleotid und demzufolge die DNS-Synthese (13),
- 2) ara-C wird in die DNS eingebaut und hemmt so die DNS-Synthese (13) (14),
- 3) ara-C wird zu ara-CTP phosphoryliert, welches wiederum die DNS-Polymerase hemmt (15) (16).

Als Resultat eines jeden der angeführten Theorien wird sich ein relativer DNS-Mangel ergeben, welcher die intermitotische Phase der Zellteilung prolongiert; folglich können die Erythroblasten nicht zu Normoblasten reifen. Das ara-C behandelte Knochenmark der Maus reagiert durch Einstellung der Normoblastenproduktion.

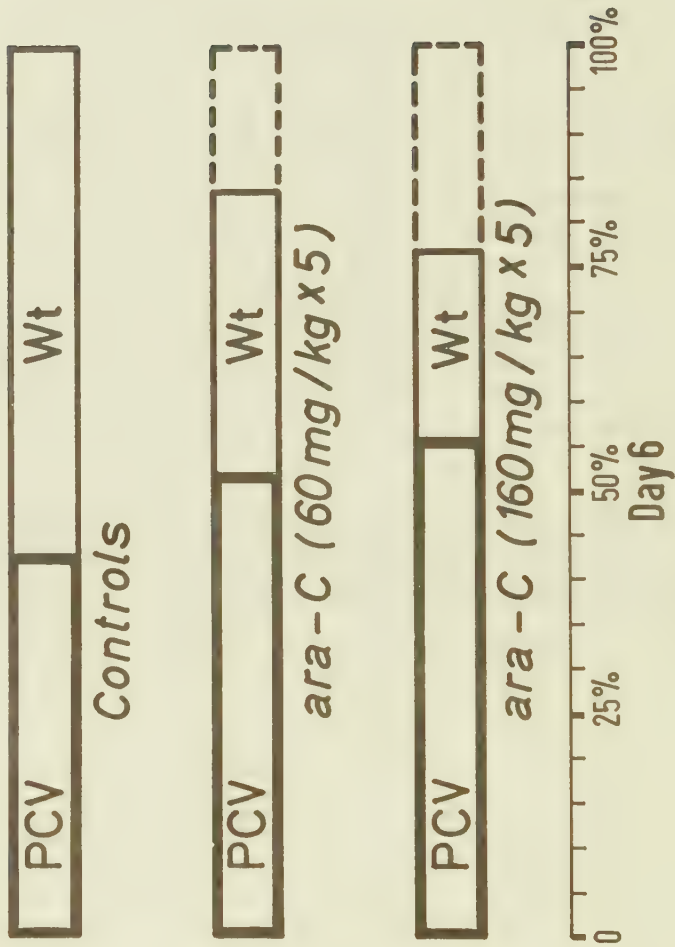
Die megaloblastischen Knochenmarksveränderungen, welche bei mit ara-C behandelten Menschen regelmäßig charakteristisch auftreten, konnten bei unseren Tierversuchen nicht beobachtet werden. Es gab keine Megaloblastose, keine Vergrößerung der Vorstufen der Erythroblasten, keine Auflockerung der Chromatinstruktur, ebenso war auch kein Riesenmetamyelocyt zu sehen. Ein detailliertes Untersuchungsergebnis dieser artspezifischen Probleme wird noch an anderer Stelle erscheinen (17).

Klinische Folgerungen

Unsere hämatologischen Beobachtungen über ara-C-Behandlung bei normalen Mäusen zeigen, daß dieses Medikament eine Einstellung der Normoblastenproduktion verursacht. Nachdem bei der Polycythemia rubra vera in den meisten Fällen die orthochromatischen Normoblasten im Knochenmark vermehrt gefunden werden, erwartet man, daß diese Krankheit mit ara-C wirkungsvoll behandelt werden kann. Diese Annahme wurde durch Behandlung einer kleinen Serie erythrämischer Patienten mit ara-C bestätigt (8).

Obwohl in unseren Tierversuchsreihen extrem hohe Dosen von ara-C verabfolgt wurden und dabei die Hämokonzentration auftrat, sollten jedoch auch Patienten, die unter intensiver ara-C-Therapie stehen, wegen der Möglichkeit von Elektrolyt- und Flüssigkeitsstörungen genau beobachtet werden.

Unsere hämatologischen Untersuchungen zeigen außerdem, daß der ara-C-Therapie wegen der Thrombocytenveränderungen eventuell Grenzen gesetzt sein könnten.



Zusammenfassung

Die bis jetzt noch nicht beschriebene, jedoch auffallendste Wirkung der massiven ara-C-Therapie bei Mäusen (60 mg/kg/die intraperitoneal 5 Tage lang) ist die dabei auftretende frühzeitige Hämokonzentration. Diese Wirkung ist dosisabhängig, reversibel, sie kann durch gleichzeitige Verwendung von CdR aufgehoben werden (100 mg/kg/die, s.c. 5 Tage lang). Die Hämokonzentration mit dem dabei auftretenden rapiden Gewichtsverlust weist auf eine Dehydratation hin. Diese Hämokonzentration ist nicht hämatologisch bedingt, sondern ist einer Störung des Elektrolyt- und Flüssigkeitsgleichgewichtes zuzuschreiben. Obwohl in unseren Tierversuchsserien extrem hohe Dosen von ara-C verabfolgt wurden und dabei die Hämokonzentration auftrat, sollten jedoch auch Patienten, die unter intensiver ara-C-Therapie stehen, wegen der Möglichkeit von Elektrolyt- und Flüssigkeitsstörungen genau beobachtet werden.

Das ara-C behandelte Knochenmark der Maus reagiert durch Einstellung der Normoblastenproduktion. Diese Tatsache liefert die Erklärung, daß die Polycythaemia rubra vera mit ara-C wirkungsvoll behandelt werden kann. Unsere hämatologischen Untersuchungen zeigen außerdem, daß der ara-C-Therapie wegen der Thrombocytenveränderungen eventuell Grenzen gesetzt sein könnten.

L i t e r a t u r

- 1 Hunter, J.H., U.S. Patent 3, 183, 226, May 11, 1965
- 2 Walwick, E.R., Dekker, C.A., and Roberts, W.K.,
Proc. Chem. Soc., p. 84 (1959)
- 3 Cohen, S.S., In: Progress in Nucleic Research and
Molecular Biology, Vol. 5 (Davidson,
J.N., and Cohn, W.E., Eds.), New York
and London (Academic Press) 1966, p.1.
- 4 Carey, R.W., and Ellison, R.R., Clin. Res. 13:337, 1965
- 5 Howard, J.P., Cevik, N., and Murphy, M.L., Cancer
Chemoth. Rep. 50:287-291, 1966
- 6 Talley, R.W., and Vaitkevicius, V.K., Blood 21:3,
352-362, 1963
- 7 Talley, R.W., O'Bryan, R.M., Tucker, W.G., Loo, R.V.,
CANCER, Vol. 20, N. 5, May, 1965
- 8 Goldenberg, D.M., and Witte, S., Arneim. Forsch. (Drug.
Res.) 17, 1084 (1967)
- 9 Goldenberg, D.M., V. Biro, Elster, K., Schricker, K.Th.,
and Sögtrop, H.H., in Vorbereitung
- 10 Smith, C.G., PROC. III. INT. PHARMACOL. CONGRESS,
Sao Paulo, Brazil., July 24-30 (1966)
in press.
- 11 Crosby, W.H., Munn, J.I., and Furth, F.W., U.S. Armed
Forces Med. J., 5, 693, 1954
- 12 Christie, G.S., and Judah, J.D., Proc. Roy. Soc.
142, 241 (1954)
- 13 Chu, M.Y., and Fischer, G.A., Biochem. Pharmacol.
11, 423 (1962)
- 14 Silagi, S., Cancer Res., 25, 1446 (1965)
- 15 Furth, J.J., and Cohen, S.S., Proc. Amer. Assoc. Cancer
Res. 9, Abst. 89 (1968)
- 16 Kimball, A.P. and Wilson, M.J., Proc. Soc. exp. Biol. 127, 42,
(1968)
- 17 Biro, V., and Goldenberg, D.M., in Vorbereitung

- 18 Evans, J.S., et al Proc.Soc.Expt.Biol.Med. 106, 350 (1961)
- 19 Buthala, D.A., Proc.Soc.Expt.Biol.Med. 115, 69 (1964)
- 20 Smith, C.G., et al., Proc.Amer.Assoc.Cancer Res. 6,
235 (1965)
- 21 Renis, H.E., and Johnson, H.G. Bact. Proc. 45, 140 (1962)
- 22 Welch, A.D., Ann.N.Y. Acad.Sci., 123: 19-41, 1965

Meiner Frau gewidmet

L e b e n s l a u f

Am 7.4.1933 wurde ich in Budapest als Sohn des Unternehmers Viktor Biro und seiner Ehefrau Elisabeth geboren. Mein Vater wurde 1945 hingerichtet.

Schulbildung: 4 Jahre Grundschule, 8 Jahre Humanistisches Gymnasium mit Abitur in Budapest 1951. Anschließend wurde ich zur Militärakademie einberufen, wo ich 1953 an der Gesundheitsabteilung ein Diplom und den Dienstgrad eines Leutnants erwarb. Noch in diesem Jahr wurde ich aus Staatssicherheitsgründen inhaftiert, aber nach Stalins Tod wieder freigelassen. Im Herbst 1953 begann ich mein medizinisches Studium an der Universität Budapest, wo ich 6 Semester erfolgreich absolvierte.

Wegen aktiver Teilnahme bei dem Aufstand 1956 war ich gezwungen, ins Ausland zu flüchten. Ich kam in die Vereinigten Staaten, wo ich am 12.6.1962 die Staatsangehörigkeit erwarb. Ich arbeitete im klinisch-medizinischen Laboratorium des Universitäts-Krankenhauses der Universität von Kalifornien, Medizinische Technologie. In San Francisco wurde ich Leiter der hämatologischen Abteilung des Laboratoriums des "Kaiser Foundation"-Hospitals. 1961 heiratete ich in San Francisco. 1962 kam ich nach Wien, wo ich zwei Semester an der Philosophischen Fakultät der Universität die deutsche Sprache studierte.

1963 kam ich nach Erlangen, wo ich 6 klinische Semester und am 23.1.1967 das Medizinische Staatsexamen mit der Gesamtnote "sehr gut" absolvierte. Nachdem ich meine Pflichtzeit als Medizinalassistent beendet hatte, legte ich auch das amerikanische Staatsexamen mit Erfolg ab.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990
